

С.А. Сельков,
М.И. Ярмолинская,
О.В. Павлов, Д.И. Соколов,
В.В. Григорьева,
Н.Л. Крамарева,
Н.Г. Солодовникова, Д.А. Ниаури

НИИ акушерства и гинекологии
им. Д.О. Отта РАМН, Санкт-Петербург

СИСТЕМНЫЙ И ЛОКАЛЬНЫЙ УРОВНИ РЕГУЛЯЦИИ ИММУНОПАТОГЕНЕТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ У ПАЦИЕНТОК С НАРУЖНЫМ ГЕНИТАЛЬНЫМ ЭНДОМЕТРИОЗОМ

■ В статье представлены собственные данные авторов, полученные при изучении системных и локальных механизмов регуляции иммунологических процессов в патогенезе наружного генитального эндометриоза. Проведено исследование спектра и продукции некоторых цитокинов, факторов роста эндометрионными гетеротопиями в условиях органотипического культивирования в сопоставлении с секреторной активностью клеток перитонеальной жидкости и тканью эндометрия у женщин с эндометриозом.

■ **Ключевые слова:** наружный генитальный эндометриоз; система интерферонов; цитокины; факторы роста; перитонеальная жидкость; органотипическое культивирование; эндотелиальные клетки

Введение

Эндометриоз — опухолевидное гормонозависимое заболевание, сущность которого заключается в разрастании ткани, сходной по своему строению и функции с эндометрием, но находящейся за пределами границ нормального расположения слизистой оболочки матки, развивающееся на фоне нарушения иммунного гомеостаза [2].

Эндометриоз является одной из наиболее актуальных проблем современной гинекологии. Частота заболевания у женщин репродуктивного возраста по данным разных авторов варьирует в достаточно широких пределах от 12 до 65%, причем в последние годы отмечается неуклонный рост данной патологии. Учитывая множество различных теорий о происхождении эндометриоза, следует согласиться с I. Brosens (1996) в том, что «эндометриоз остается феноменом, который как Мона Лиза обладает способностью скрывать свое настоящее лицо, и нет ничего удивительного в том, что исследователи этого заболевания продолжают высказывать по поводу него различные точки зрения».

В связи с тем, что сущность заболевания выяснена недостаточно, применяемые схемы лечения часто не обеспечивают длительного эффекта, а основной нерешенной проблемой являются рецидивы эндометриоза. Для обеспечения клиницистов эффективными методами лечения необходимо дальнейшее углубленное изучение патогенеза эндометриоза.

До последнего времени для медикаментозной коррекции иммунных нарушений при эндометриозе применяли давно известные препараты группы иммуномодуляторов — пентоксифиллин, тактивин, тималин, левамизол. Их фармакологическое действие связано с плейотропным эффектом и характеризуется повышением уровня Т- и В-лимфоцитов, стимуляцией реакций клеточного иммунитета и продукции лимфокинов, активацией фагоцитоза и процессов пролиферации. При этом крайне трудно выделить конкретные точки приложения этих иммуномодулирующих препаратов. В 1995 году было высказано предположение (С.А. Сельков, М.И. Ярмолинская) о том, что эндометриоз является заболеванием с нарушением антирепликативных механизмов иммунной системы [6]. В то же время известно, что основную роль в реализации надзорных функций иммунной системы, регулирующих процессы пролиферации и удаления из организма измененных клеток, играют три компонента: система цитотоксических клеток (в первую очередь натуральные киллеры — НК-клетки, антителозависимые киллеры, лимфокинактивированные киллеры); система интерферонов и макрофаги. Изучению функциональной активности НК-клеток у пациенток с эндометриозом посвящено достаточно много работ, но вопрос о том являются ли связанные с эндометриозом изменения в активности

НК-клеток причиной или следствием заболевания все еще остается открытым. Многообразие свойств интерферонов (IFN) (иммуномодулирующие, антипролиферативные, противовирусные и т. д.) указывает на широкие контрольно-регуляторные функции этой системы, направленные в целом на поддержание гомеостаза.

Материалы и методы

Представленные результаты основаны на данных, полученных при обследовании 516 пациенток в возрасте от 21 до 44 лет с наружным генитальным эндометриозом (НГЭ). Диагноз у всех больных был установлен на основании интраоперационного обследования (467 лапароскопий и 49 чревосечений), а также подтвержден результатами гистологического исследования. Степень распространенности процесса определяли в баллах по пересмотренной классификации Американского Общества Фертильности (R-AFS) [5]. I степень НГЭ была диагностирована у 247 (47,9%) больных, II степень — у 111 (21,5%), III степень — у 53 (10,2%) и IV степень — у 105 (20,4%) пациенток. Контрольную группу составили 42 здоровые фертильные женщины.

Цитотоксический индекс (ЦИ) натуральных киллеров у здоровых фертильных женщин составил $48,2 \pm 1,2\%$ и колебался в зависимости от фазы менструального цикла. Цитотоксическая активность в первой фазе цикла составила $54,1 \pm 1,7\%$, а во второй фазе — $46,3 \pm 1,4\%$. Это позволило предположить, что уровень функциональной активности НК-клеток может быть связан с особенностями гормонального фона. У пациенток с НГЭ отмечалось достоверное снижение функциональной активности НК-клеток по сравнению с показателями в контрольной группе. При НГЭ I степени цитотоксический индекс составил $36,8 \pm 1,2\%$, при II степени — $34,2 \pm 1,1\%$, при III степени — $32,3 \pm 1,2\%$, при IV степени НГЭ отмечалась наиболее низкая цитотоксическая активность НК-клеток — $26,4 \pm 0,9\%$. У всех больных перитонеальным эндометриозом нами было выявлено достоверное снижение функциональной активности НК-клеток периферической крови и перитонеальной жидкости по сравнению с показателями в контрольной группе. Цитотоксический индекс НК-клеток отрицательно коррелировал со степенью распространенности процесса.

При анализе показателей интерферонового статуса было отмечено достоверное повышение уровня общего сывороточного интерферона у всех

больных с эндометриозом по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$). У здоровых фертильных женщин уровень общего сывороточного интерферона был равен $9,8 \pm 1,7$ МЕ/мл. Не было выявлено достоверных различий между уровнем общего сывороточного интерферона и степенью распространенности процесса (при I степени НГЭ — $26,5 \pm 2,1$ МЕ/мл, при II степени — $25,1 \pm 1,7$ МЕ/мл, при III степени — $23,7 \pm 1,9$ МЕ/мл и при IV степени — $24,9 \pm 2,3$ МЕ/мл. В перитонеальной жидкости (ПЖ) уровень общего сывороточного интерферона был достоверно ниже его уровня в периферической крови.

У больных НГЭ было отмечено достоверное снижение способности лейкоцитов периферической крови (ПК) продуцировать IFN- α/β по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$). В зависимости от степени распространенности эндометриоза были получены следующие результаты: I степень — $168,4 \pm 13,2$ МЕ/мл, II степень — $152,3 \pm 12,4$ МЕ/мл, III степень — $203,4 \pm 15,8$ МЕ/мл, IV степень — $96,3 \pm 7,6$ МЕ/мл. В контрольной группе продукция IFN- α/β *in vitro* составила $278,3 \pm 18,7$ МЕ/мл.

Одновременно наблюдалось выраженное снижение способности лейкоцитов ПК продуцировать IFN- γ у пациенток с НГЭ по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$). При I степени эндометриоза способность к секреции IFN- γ составила $48,3 \pm 3,4$ МЕ/мл, при II степени — $35,6 \pm 2,7$ МЕ/мл, при III степени — $41,4 \pm 3,1$ МЕ/мл, при IV степени заболевания — $22,7 \pm 1,8$ МЕ/мл. У здоровых фертильных женщин (контрольная группа) способность к продукции IFN- γ составила $154,6 \pm 7,1$ МЕ/мл.

При анализе показателей интерферонового статуса в зависимости от тяжести эндометриоза обращало внимание некоторое повышение способности лейкоцитов к продукции как IFN- $\alpha\beta$ так и IFN- γ у пациенток с III степенью НГЭ. Известно, что I и II степени НГЭ относят к «малым» формам эндометриоза, в то время как III и IV степени заболевания являются распространенным процессом. Можно предположить, что при III степени эндометриоза, т. е. при переходе из начальной стадии заболевания в более тяжелую, включаются резервные механизмы, усиливающие антипролиферативную активность. При IV степени НГЭ отмечено наиболее выраженное снижение способности лейкоцитов ПК секретировать вышеперечисленные типы интерферонов, т. е. наблюдается «срыв» резервных механизмов антипролиферативной защиты, и, как следствие, наибольшая степень распространенности процесса.

Полученные нами данные свидетельствуют о существенных изменениях иммунологических показателей при НГЭ. Уменьшение цитотоксической активности НК-клеток и способности лимфоидных клеток к секреции α/β - и γ -интерферонов подтверждает наше предположение о нарушении при эндометриозе надзорных функций иммунной системы, регулирующих процессы пролиферации и имплантации клеток. Наиболее вероятно, что процессы локализации эндометриальных клеток в необычном месте во многом также определяются нарушениями микроокружения в перитонеальной полости, в первую очередь изменениями перитонеальных макрофагов (Мф). Именно в очаге локализации эндометриоидных гетеротопий происходят те «драматические события», которые определяют пути развития заболевания — или в сторону его прогрессирования или в направлении регресса («лизирования» имплантов). В этом плане огромное значение может иметь динамика и интенсивность продукции различных цитокинов в области разрастаний патологических очагов, а также клетками микроокружения.

Цитокины являются посредниками межклеточных взаимодействий, регулируют кроветворение, иммунный ответ, клеточный цикл в различных тканях, участвуют во многих физиологических и патологических процессах. Имеющиеся литературные данные относительно продукции цитокинов у больных НГЭ немногочисленны и противоречивы, что диктует необходимость дальнейшего изучения этой проблемы.

Целью наших исследований было изучение спектра и интенсивности продукции некоторых цитокинов эндометриоидными гетеротопиями в условиях органотипического культивирования, в сопоставлении с секреторной активностью клеток перитонеального экссудата и тканью эндометрия у женщин с наружным генитальным эндометриозом.

Проведено обследование 43 пациенток с НГЭ в возрасте от 19 до 35 лет. Диагноз генитального эндометриоза у всех больных верифицирован при лапароскопии и подтвержден данными гистологического исследования. Степень распространения наружного генитального эндометриоза определялась в баллах по пересмотренной классификации Американского Общества Фертильности R-AFS

Согласно этой классификации, из 43 больных I степень НГЭ была диагностирована у 10 пациенток, II степень — у 12, III степень — у 10 и IV степень — у 11 пациенток.

В контрольную группу вошли 19 здоровых женщин репродуктивного возраста, обратившихся для проведения хирургической стерилизации.

Как уже подчеркивалось, особая роль в развитии НГЭ принадлежит процессам, происходящим в перитонеальной полости, приводящим к развитию или к регрессу эндометриоидных гетеротопий. Возможно, что локальная воспалительная реакция создает благоприятные условия для развития эндометриоидных трансплантатов. Формирование и функционирование эндометриального трансплантата во многом определяется степенью васкуляризации. Стимуляция процессов ангиогенеза в очагах эндометриоза осуществляется на локальном уровне и контролируется ангиогенными факторами роста и цитокинами, секретируемыми перитонеальными Мф, клетками эндометриоидных гетеротопий, свободными эндометриальными клетками, эндотелиальными клетками (ЭК).

Для оценки локальной продукции цитокинов и ростовых факторов тканями (VEGF (фактор роста эндотелия сосудов), IGF-1 (инсулиноподобный ростовой фактор I), TGF β (трансформирующий ростовой фактор β)) проводилось органотипическое культивирование эндометриоидных гетеротопий и эндометрия. В полученных супернатантах эндометриоидных гетеротопий и эндометрия определяли содержание фактора некроза опухоли (TNF), интерлейкина-1 β (IL-1 β), IL-2, IL-6 и IL-8. Уровни указанных цитокинов и концентрации ростовых факторов также определены в перитонеальной жидкости, взятой во время проведения лапароскопии у больных НГЭ и у женщин контрольной группы.

Обсуждение результатов

Супернатанты культур эндометриоидных гетеротопий

При изучении цитокинов в супернатантах культур эндометриоидных гетеротопий были получены следующие результаты: отмечен наиболее высокий уровень IL-8, который составил в среднем 1360,7 пг/мг ткани. Значение IL-6 составило 326,6 пг/мг ткани. Содержание IL-1 β , IL-2 и TNF в абсолютном выражении было невелико (данные представлены на рис. 1, 2).

Изменения содержания в зависимости от степени распространенности НГЭ выявлены в отношении IL-1 β (рис. 3). Так, при I степени НГЭ уровень IL-1 β составил 1,8 пг/мг, при НГЭ II степени — 2,96 пг/мг, при НГЭ III степени — 8,4 пг/мг и при НГЭ IV степени — 6,18 пг/мг. IL-1 является одним из главных медиаторов,

ответственных за развитие местной воспалительной реакции. Местная воспалительная реакция хотя и усиливается при переходе от «малых» форм НГЭ к более «тяжелым», но, возможно, является недостаточной для регресса болезни.

Секреторная активность эндометриоидных гетеротопий характеризовалась снижением уровня продукции IL-1 β при тяжелых формах НГЭ, однако из-за значительных колебаний показателей это различие не носило достоверного характера.

Результаты данного исследования свидетельствуют о снижении секреции провоспалительного цитокина IL-1 β клетками эндометриоидного очага при тяжелых формах заболевания. В то же время отмечено увеличение продукции IL-6, который, обладая проопухолевыми и противовоспалительными свойствами, является оппозитным для IL-1 β . Содержание IL-6 при НГЭ I степени составило 64 пг/мг, при НГЭ II степени — 311,8 пг/мг, при НГЭ III степени — 1029 пг/мг и при НГЭ IV степени — 613,2 пг/мг. На рис. 4 отражено, что наиболее высокие значения содержания IL-6 были отмечены при III и IV степенях НГЭ, что свидетельствует об усилении воспалительной реакции в эндометриоидном очаге при прогрессировании заболевания. Интенсивность секреции IL-6 при тяжелых формах НГЭ примерно в 3 раза превосходила аналогичные показатели для I–II степени заболевания. Повышение уровня IL-6 в эндометриоидном очаге может обуславливать усиление пролиферативных процессов.

Подобная динамика отмечена и для IL-8. Уровень IL-8 зависел от степени распространенности НГЭ и составил при I степени 254,43 пг/мг, при II степени НГЭ — 910,7 пг/мг, при III степени НГЭ — 3059 пг/мг и при НГЭ IV степени — 789 пг/мг (рис. 5). Такое прогрессивное повышение выработки IL-8 от малых степеней НГЭ к более «тяжелым», указывает на усиление пролиферативных процессов, так как именно IL-8 играет ключевую роль в пролиферативной активности эпителиальных клеток и ангиогенезе очага эндометриоза. В то же время снижение уровня IL-8 при IV степени НГЭ может свидетельствовать об уменьшении или истощении резервных секреторных возможностей иммунокомпетентных клеток.

При определении содержания IL-2, показано его достоверное повышение, коррелирующее со степенью тяжести заболевания (рис. 6). Так, значение IL-2 при НГЭ I степени составило 4,73 пг/мг, при НГЭ II степени — 6,8 пг/мг, при НГЭ III степени — 10,47 пг/мг и при НГЭ

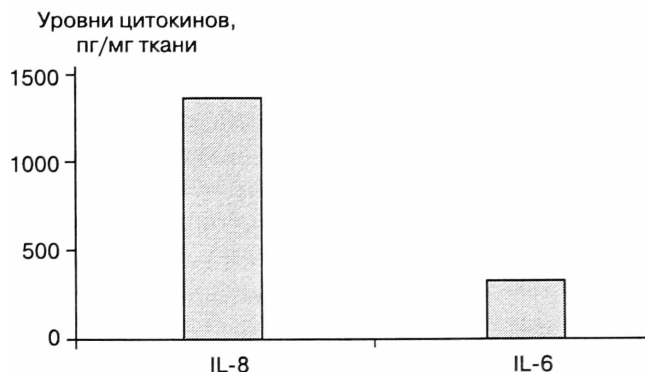


Рис. 1. Содержание IL-8 и IL-6 в супернатантах эндометриоидных гетеротопий

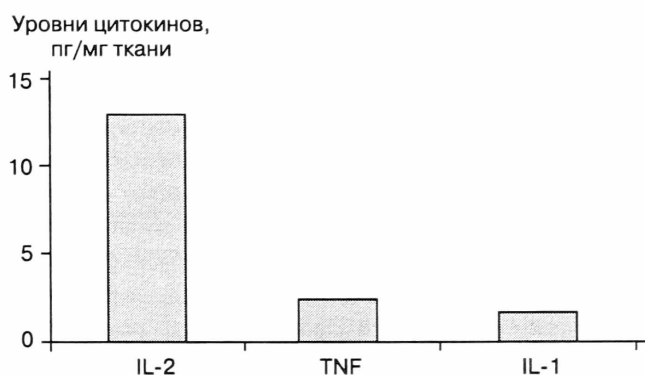


Рис. 2. Содержание IL-2, TNF и IL-1 β в супернатантах эндометриоидных гетеротопий

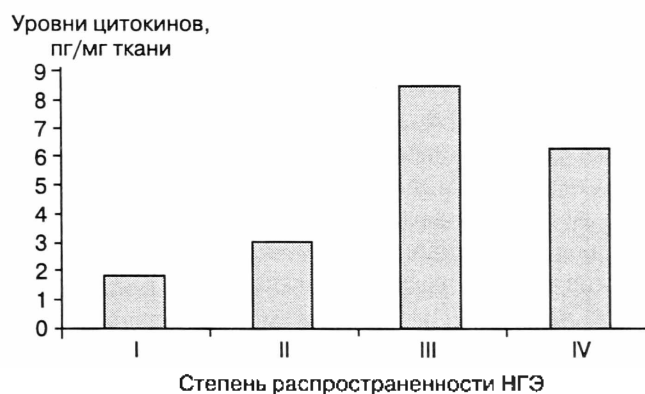


Рис. 3. Содержание интерлейкина-1 β в супернатантах эндометриоидных гетеротопий в зависимости от степени распространенности НГЭ

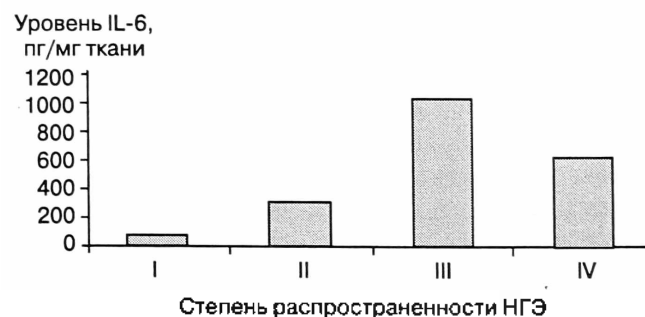


Рис. 4. Содержание IL-6 в супернатантах эндометриоидных гетеротопий в зависимости от степени распространенности НГЭ

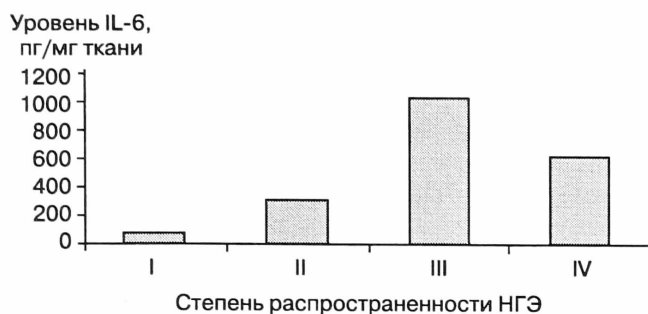


Рис. 5. Содержание IL-8 в супернатантах эндометриоидных гетеротопий в зависимости от степени распространенности НГЭ

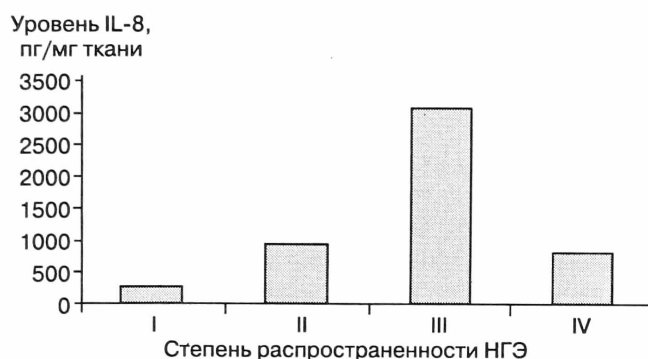


Рис. 6. Содержание IL-2 в супернатантах эндометриоидных гетеротопий в зависимости от степени распространенности НГЭ

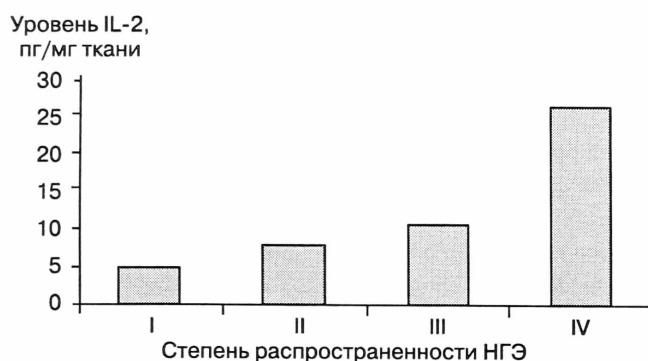


Рис. 7. Содержание IL-8 и IL-6 в супернатантах эндометрия больных НГЭ

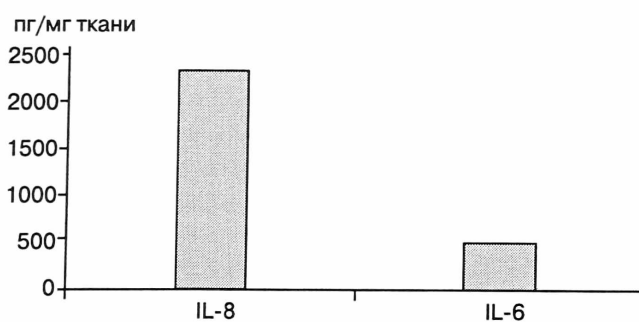


Рис. 8. Содержание IL-2, TNF и IL-1в в супернатантах эндометрия больных НГЭ

IV степени — 26,3 пг/мг. Такое повышение содержания IL-2 в очагах эндометриоза можно объяснить как защитную реакцию со стороны иммунной системы, направленную на стимуляцию, главным образом, функций T-лимфоцитов и макрофагов, что приводит к развитию клеточного типа ответа. Наблюдаемое увеличение выработки IL-2 при НГЭ III–IV степени, может отражать компенсаторную реакцию иммунной системы, направленную на стимуляцию цитотоксических клеток и усиление противоопухолевой активности.

Достоверных различий в содержании TNF у пациенток с различной степенью эндометриоза нами обнаружено не было. В среднем его содержание составило 2,31 пг/мг ткани.

При тяжелых формах заболевания также наблюдалось увеличение уровня продукции VEGF (фактора роста эндотелия сосудов) на 80% по сравнению с более легкими формами НГЭ.

Как и при культивировании аутопического эндометрия, при распространенных формах НГЭ уровень секреции TGF β в очагах эндометриоза снижался, тогда как характер продукции инсулиноподобного ростового фактора-1 (IGF-1) не претерпевал существенных изменений в зависимости от степени тяжести заболевания.

Уровень цитокинов в образцах эндометрия

В целях выявления соответствия продукции цитокинов эндометриоидными гетеротопиями и ткань эндометрия, произведено изучение цитокинового профиля ткани эндометрия больных НГЭ.

У всех женщин исследование проводилось во второй фазе менструального цикла. Так, максимальные значения установлены в отношении содержания IL-8 — 2340,5 пг/мг ткани. Выявлены различия в количественном содержании исследуемых цитокинов (IL-1в, IL-2, IL-6, IL-8 и TNF) в образцах эндометрия. Уровень IL-6 составил 463,2 пг/мг ткани, IL-2 — 11,8 пг/мг ткани, IL-1в — 3,85 пг/мг и TNF — 4,66 пг/мг ткани, (данные представлены на рис. 7, 8).

В культурах аутопического эндометрия наиболее высокий уровень IL-1в был отмечен при распространенном НГЭ (III–IV степени), превышающий аналогичные показатели как в контрольной группе, так и при более легких формах (I–II степени) заболевания.

Производство IL-2 эксплантами эндометрия больных достигла максимальных значений при тяжелых формах НГЭ, в 14 раз превысив по-

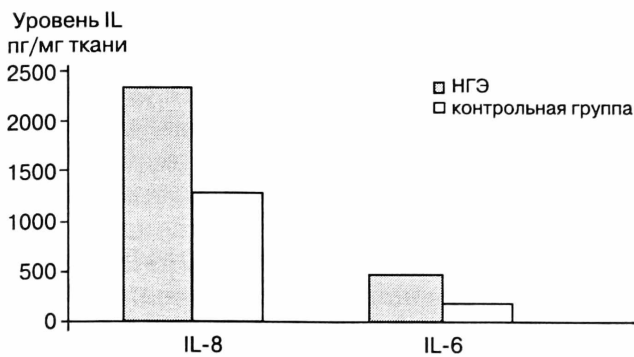


Рис. 9. Содержание IL-8 и IL-6 в супернатантах эндометрия больных НГЭ и контрольной группы

казатели контрольной группы, что соответствовало данным, полученным при оценке секреторной активности гетеротопий. Это свидетельствует об общих механизмах регуляции продукции цитокинов.

Секреция IL-6 тканью эндометрия больных с НГЭ была достоверно выше аналогичных значений контрольной группы, достигая наибольшей величины при распространенных формах заболевания. Среднее содержание IL-6 в супернатантах эндометрия составило 463,16 пг/мг, а в контрольной группе 172,04 пг/мг ткани (рис. 9).

При изучении уровня IL-8 в супернатантах эндометрия выявлено увеличение его концентрации почти в 2 раза в эндометрии женщин с генитальным эндометриозом (2340,5 пг/мг) по сравнению с эндометрием здоровых женщин (1287,66 пг/мг соответственно) (рис. 9). Возможно, именно стимулирующее действие IL-8 на адгезию клеток эндометрия к брюшине вносит вклад в возникновение эктопических очагов эндометрия, а изменение концентрации этого цитокина отражает выраженность пролиферативного процесса.

Достоверных различий в содержании IL-1 β и TNF в супернатантах эндометрия больных НГЭ и здоровых женщин отмечено не было.

При оценке секреции ростовых факторов тканью эндометрия больных с НГЭ наиболее высокая концентрация VEGF в супернатантах культур была выявлена при тяжелых формах НГЭ. Возрастание уровня продукции этого фактора составило 42% и 75% по сравнению с контрольной группой и I–II степенью заболевания соответственно.

Уровень продукции TGF β в эндометрии при тяжелых формах заболевания был в 2 раза ниже аналогичных показателей при I–II степени заболевания.

Достоверной разницы в концентрациях IGF-I в супернатантах эутопического эндометрия больных с НГЭ и здоровых женщин обнаружено не было, однако отмечена тенденция к увеличению продукции ростового фактора при прогрессировании заболевания.

Синхронное повышение продукции провоспалительного цитокина IL-1 β и протуморогенного медиатора IL-6, возможно, определяет способность эутопического эндометрия у больных с НГЭ к имплантации. Выявленное увеличение продукции IL-1 β , IL-2, IL-6 соответствует литературным сообщениям о высокой частоте сочетаний воспалительных изменений эндометрия с НГЭ.

Усиление секреции VEGF при одновременном снижении выработки TGF β в эутопическом эндометрии при тяжелых формах НГЭ, по всей видимости, обуславливает высокий ангиогенный потенциал клеток эндометрия у больных с НГЭ, обеспечивающий их приживление и рост в перитонеальной полости.

Перитонеальная жидкость

При анализе образцов перитонеальной жидкости (ПЖ) было отмечено достоверное повышение уровней IL-1 β , TNF, IL-6 у больных НГЭ по сравнению с контрольной группой. В перитонеальной жидкости больных НГЭ установлено высокое содержание провоспалительных цитокинов IL-1 β (24,3 пкг/мг), IL-6 (1869,4 пкг/мг), превышающее аналогичные показатели в контрольной группе (13,9 пкг/мг и 27,9 пкг/мг, соответственно) ($p < 0,05$). Уровень TNF в ПЖ больных эндометриозом превышал в 7 раз показатели в контрольной группе. Значительное повышение продукции IL-1 β и TNF в ПЖ больных НГЭ, свидетельствует о высоком уровне активности мононуклеарных фагоцитов.

Учитывая тот факт, что IL-6 является антагонистом IL-1 β и TNF, синхронное повышение продукции этих цитокинов можно рассматривать как компенсаторную реакцию, направленную на снижение уровня продукции провоспалительных цитокинов, попытку сохранения баланса в цитокиновой сети.

Выявленные соответствия в изменении продукции провоспалительных цитокинов тканями эндометриодных гетеротопий, эндометрия и клетками перитонеального экссудата могут свидетельствовать о системных изменениях регуляции продукции цитокинов в процессе развития НГЭ. Не совсем ясно, почему активированные макрофаги не фагоцитируют эндомет-

риальные клетки, как в здоровом организме, а продолжают выделять интерлейкины, TNF, отсутствующие в таком большом количестве у здоровых женщин. Возможно, что «переключение» фагоцитарной на секреторную активность перитонеальных макрофагов зависит от «перегрузки» иммунной системы брюшной полости вследствие поступления большого количества эндометриальных клеток, или скорее является проявлением специфических нарушений клеточно-опосредованного иммунитета у больных эндометриозом.

В то же время при сравнении содержания IL-2 и IL-8 в ПЖ больных НГЭ с показателями контрольной группы, достоверных отличий получено не было.

Возможно, определенную роль в прогрессировании эндометриоза играет IL-8, как важный ангиогенный фактор, способствующий васкуляризации эктопических эндометриальных внедрений. При изучении зависимости концентрации IL-8 от степени распространенности процесса, выявлено его максимальное значение при III-й степени заболевания, т. е. при переходе от начальной стадии в более «тяжелую», при которой усиливаются пролиферативные процессы. В то же время снижение уровня IL-8 при IV степени НГЭ может свидетельствовать о снижении или истощении «резервных секреторных возможностей» иммунокомпетентных клеток.

Важным также представляется определение концентрации ростовых факторов (VEGF, IGF-1, TGF β) в перитонеальной жидкости больных НГЭ и здоровых женщин, а также оценка влияния ПЖ больных НГЭ на пролиферативную активность человеческих эндотелиальных клеток (ЭК).

Провоспалительные цитокины IL-1 и IL-6, источниками которых могут быть ЭК и перитонеальные макрофаги, по разному регулируют продолжительность жизни и пролиферацию ЭК. Эндогенный IL-1 β снижает продолжительность жизни ЭК. С другой стороны, IL-1 β способствует деградации базальной мембраны ЭК, инициируя ангиогенез. IL-6 инициирует ангиогенез опосредованно — через индукцию экспрессии VEGF. Провоспалительные цитокины способны активировать секрецию ЭК и перитонеальными макрофагами ростовых факторов bFGF (фактор роста фибробластов), VEGF, PlGF (плацентарный ростовой фактор), PDGF, G-CSF и GM-CSF, участвующих в регуляции ангиогенеза. bFGF и VEGF оказывают прямое ангиогенное действие, стимулируя миграцию, пролифе-

рацию и протеолитическую активность ЭК. PlGF потенцирует пролиферацию стимулирующее действие VEGF в отношении ЭК. VEGF увеличивает жизнеспособность ЭК, защищая клетки от апоптоза, индуцированного TNF- α . G-CSF и GM-CSF стимулируют миграцию и пролиферацию ЭК.

Мы не обнаружили VEGF и TGF β 1 в образцах перитонеальной жидкости больных НГЭ. Возможно, это объясняется тем, что многие цитокины и ростовые факторы секретируются при непосредственном контакте клетки-эффиктора и клетки-мишени. Ростовые факторы bFGF, TGF β , VEGF, PDGF и цитокины способны сохраняться в экстрацеллюлярном матриксе и выделяться в результате его деградации, становясь при этом факторами ангиогенеза. Отсутствие TGF β 1 в образцах ПЖ больных НГЭ может быть связано также и с активной фазой процесса ангиогенеза, в ходе которой цитокиновый баланс смещен в сторону проангиогенного профиля. Вместе с тем нами установлено, что образцы перитонеальной жидкости больных НГЭ обладают высокой ангиогенной активностью. Перитонеальная жидкость больных НГЭ достоверно увеличивала митотическую активность ЭК в отличие от ПЖ здоровых женщин.

Перитонеальная жидкость больных НГЭ обладает проангиогенным потенциалом, обусловленным наличием в ней провоспалительных цитокинов IL-1 β и IL-6, и ростового фактора IGF-1. Эти факторы могут отвечать за инициацию и поддержание процессов ангиогенеза в течение длительного времени, приводя к возникновению и росту эктопических эндометриоидных очагов. При этом IGF-1 способен иницировать и поддерживать локальный ангиогенез в эндометриоидном очаге при отсутствии в ПЖ одного из главных ангиогенных факторов — VEGF. Отсутствие в перитонеальной жидкости больных НГЭ ингибитора ангиогенеза TGF β 1, возможно, свидетельствует в пользу смещения баланса про- и антиангиогенных факторов в сторону проангиогенного профиля. Метод оценки пролиферативного потенциала ПЖ может применяться для решения диагностических задач, выбора и оценки эффективности проводимой терапии.

Выводы

Таким образом, изучение цитокинового профиля суперпатантов эндометрия, эндометриоидных гетеротопий, а также ПЖ больных НГЭ

позволяет конкретизировать механизмы иммунных нарушений на локальном уровне при эндометриозе.

Дальнейшие исследования в этой области позволят расширить диагностические возможности и выбрать необходимую патогенетически обоснованную терапию, в частности, с использованием генноинженерных аналогов естественных цитокинов.

К настоящему времени известно около 50 цитокинов, определяющих характер взаимодействия клеток и изменение их функций при развитии тех или иных патологических процессов. Эти медиаторы реализуют свою активность главным образом аутокринными и паракринными путями, образуя единую регуляторную систему организма. Иммунорегуляторные эффекты цитокиновой сети построены на равновесии оппозитных пулов молекул, нарушение которого ведет к развитию различных патологических состояний.

В таком случае, есть основания полагать, что изменение соотношения про- и противовоспалительных цитокинов создает благоприятные условия для развития НГЭ.

Известные особенности развития НГЭ позволяют рассматривать это заболевание в ряду опухолевидных процессов. Активность пролиферации в эндометриоидном очаге во многом зависит от присутствия тех или иных цитокинов, их соотношения, интенсивности секреции и локальных концентраций. Преимущественно короткодистантный характер действия цитокинов делает практически невозможным определение этих параметров в целостном организме, однако культуральный подход позволяет оценить их в условиях *in vitro*. Культуральные модели, естественно, не воспроизводят полно и точно процессы, происходящие *in vivo*, но, тем не менее, дают представление об их закономерностях как в норме, так и при различных патологических состояниях, а также возможность получить некоторые количественные характеристики локальной продукции ряда цитокинов.

Анализ полученных результатов позволил предположить, что усиление ангиогенеза в опухолевом имплантате может быть связано, в том числе, и с угнетением продукции TGF β , проявляющего при НГЭ свойства ингибитора ангиогенеза.

Полученные данные позволяют сделать предположение, что в механизмах формирования и функционирования очагов эндометриоза игра-

ет роль нарушение локального цитокинового баланса и повышение способности эндометриальных клеток к пролиферации.

Результаты проведенных исследований *in vitro* в целом согласуются с современными представлениями о патогенезе заболевания, а именно: наблюдается усиление локальной продукции факторов, стимулирующих ангиогенез и пролиферацию клеток, и подавление факторов, обладающих ингибиторными свойствами. Вполне вероятно, что первичными являются изменения/нарушения уровня продукции только ограниченного числа цитокинов, и эти изменения приводят к дальнейшим сдвигам местного цитокинового баланса по типу каскадного процесса - характерного механизма действия цитокинов. Дальнейшие исследования призваны установить и вычлениить эти ключевые факторы патогенеза НГЭ. Такая задача представляется весьма сложной, однако, необходимой для выработки стратегии успешного лечения заболевания.

Возможно, что нарушение баланса клеток перитонеальной жидкости и продуцируемых ими провоспалительных и ангиогенных факторов, приводит к изменению активности пролиферации ЭК при НГЭ, способствуя развитию заболевания.

Исследования возможностей селективной стимуляции защитных функций мононуклеарных фагоцитов и цитотоксических лимфоцитов с использованием активирующих цитокинов и их ансамблей не только подтвердили патогенетическое значение нарушений иммунной системы, но и позволили определить новые подходы в лечении больных с эндометриозом. Нами были с успехом использованы иммуномодуляторы — циклоферон, реаферон, виферон, ронколейкин в комплексной терапии генитального эндометриоза [1, 3, 4]. Эффективность терапии оценивалась не только на основании данных клинико-лабораторного исследования, но также и на результатах контрольных лапароскопий. Следует отметить, что использование средств иммуномодулирующей терапии должно сопровождаться оценкой состояния параметров иммунной системы, меняющихся под влиянием применяемых препаратов. Иммунокорректирующая терапия приносит наилучший эффект при индивидуальном подборе препаратов, соответствующих состоянию иммунной системы у конкретной пациентки с эндометриозом.

Литература

1. Айламазян Э.К., Сельков С.А., Ярмолинская М.И. Генитальный эндометриоз: новые подходы к терапии: Руководство для врачей. — СПб., 1997. — 25 с.
2. Баскаков В.П. Клиника и лечение эндометриоза. — Л.: Медицина, 1990. — 240 с.
3. Корсак В.С., Тарасова М.А., Сельков С.А. и др. / Гормональная и иммуноориентированная терапия генитального эндометриоза. Пособие для врачей. — СПб.: Издательство Н-Л, 2002. — 21 с.
4. Сельков С.А., Ярмолинская М.И. Использование «Циклоферона» в комплексной терапии наружного генитального эндометриоза (применение интерферонов и их индукторов): Метод. рек. — СПб., 2004. — 40 с.
5. The American Fertility Society. Revised American Fertility Society classification of endometriosis // *Fertil. Steril.* — 1985. — Vol. 43. — P. 351.
6. Yarmolinskaya M.I., Selutin A.V., Selkov S.A. Endometriosis is connected with macrophages activation // V-th Baltic Conference on Obstetrics and Gynecology and the 94th meeting of the society of southern Swedish gynecologists: Abstract. — Malmo, 1995. — P. 141.

SYSTEMIC AND LOCAL LEVELS OF REGULATION OF IMMUNOPATHOGENETIC PROCESSES IN PATIENTS WITH EXTERNAL GENITAL ENDOMETRIOSIS

Selkov S.A., Yarmolinskaya M.I., Pavlov O.V., Sokolov D.I., Grigorijeva V.V., Kramareva N.L., Solodovnikova N.G., Niauri D.A.

■ **Summary:** The article represents the authors' data, gained during studies of systemic and local mechanisms of regulation of immune processes in pathogenesis of external genital endometriosis. Research was carried out into spectrum and production of some cytokines, growth factors by endometrioid heterotopias under condition of organotypic cultivation compared to secretory activity of cells in peritoneal fluid and endometrial tissue in women with endometriosis.

■ **Key words:** external genital endometriosis; system of interferon's; cytokines; growth factors; peritoneal fluid; organotypic cultivation; endothelial cell